



江孜沙棘的进化历史研究

作者：王文杰

单位：云南大学生态与环境学院

目的

本项目以江孜沙棘及其疑似亲本云南沙棘和肋果沙棘为研究对象。每个物种各选取10-20个种群(重点覆盖三个物种自然分布区的邻近种群)，每个种群采集10个个体；通过获取基于覆盖全基因组的具有较高种间及种内多态性的15个核基因座位和15个微卫星位点的群体遗传学数据开展如下研究：

①种群遗传多样性和遗传结构分析

对种群遗传多样性和遗传结构的研究是探讨生物对环境的适应、物种的形成以及进化机制的基础。我们将分析核基因座位和微卫星标记在群体水平上的多态性；检测遗传变异的地理分布格局；衡量种间和种内种群间的遗传分化水平；构建基因型间的遗传进化关系。

②物种形成及群体历史模拟

在上述研究的基础上，利用基于溯祖理论的多种新兴的物种形成统计理论模型，模拟和检验三个类群的种群历史动态、种间基因流的强度和时空分布式样，以鉴别江孜沙棘的同倍体杂交起源式样。

方法

①野外调查和样品采集

在现有实验材料的基础上，主要依据中国数字植物标本馆(CVH)记录(图1)，设计合理的野外采样路线进行三个研究类群群体材料的补充，重点覆盖三个物种自然分布区的邻近种群。要求每个种群采集10个个体；个体间距达100m以上，以避免所采个体来自同一基株。详细记录每个种群的经纬度、海拔、生境等信息，同时采集凭证标本。

②总DNA提取

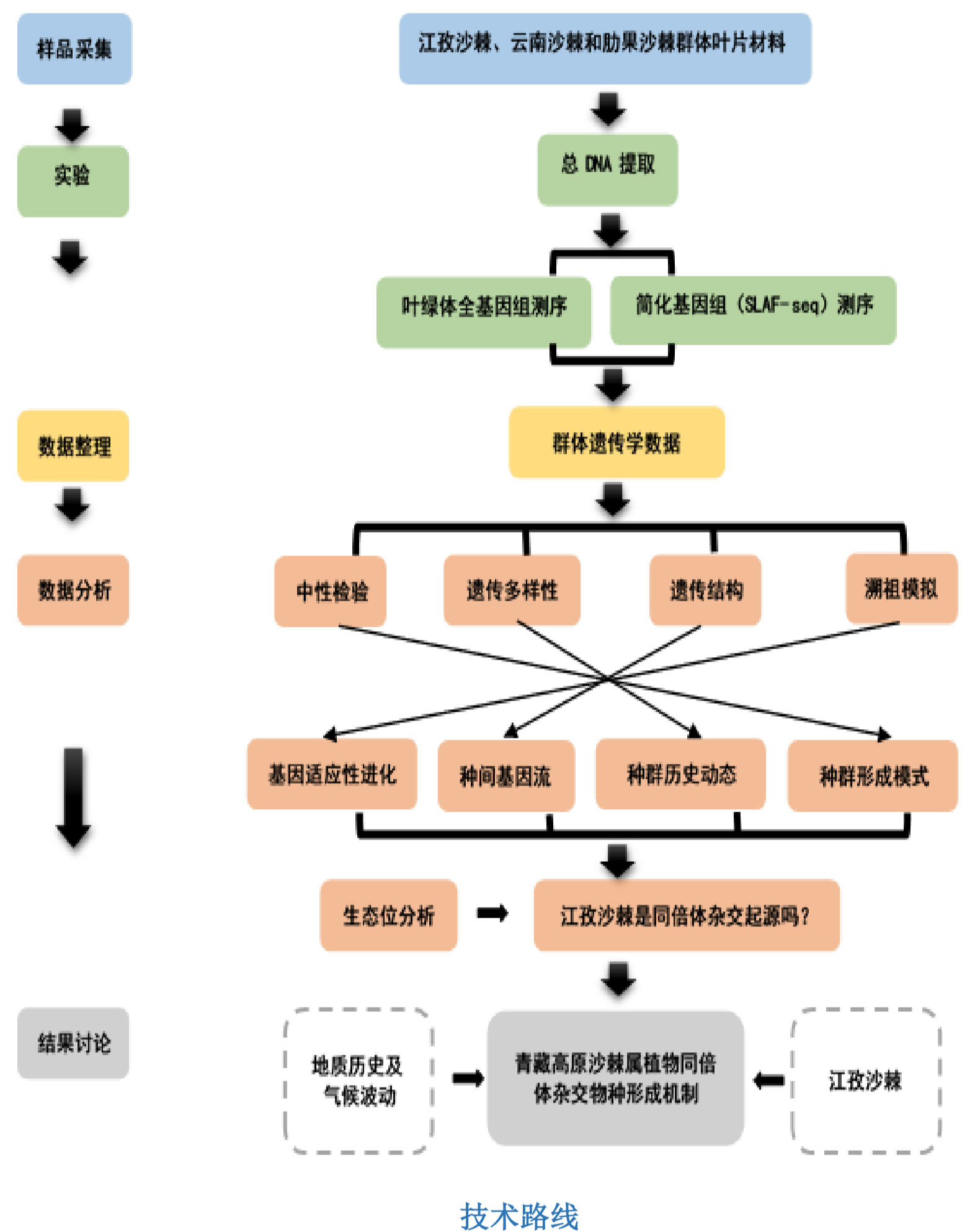
将新鲜叶片用硅胶快速干燥，存放于-20℃冰箱，用于DNA提取。提取方法采用CTAB法提取，另采集江孜沙棘和肋果沙棘的幼年植株各一株，用于RNA提取。

③RAD简化基因组(SLAF-seq)测序

将提取完成的总DNA送交公司进行RAD简化基因组(SLAF-seq)测序，对所有居群的个体进行简化基因组测序(SLAF-seq)；使用 RsaI+Scal-HF[®] 酶切，长度选择在364-464bp 建库，以每个 SLAF 标签中深度最高的序列类型作为参考序列，使用SAMtools 软件初步鉴定所有个体的 SNPs，最后使用 VCFtools 程序对检测得到的SNPs进行过滤，得到高质量的SNPs信息。

④群体遗传学数据分析

使用GENEPOP软件进行哈温平衡和连锁不平衡检验；使用GenAlEx软件进行遗传多样性分析，如：多态位点信息含量(PIC)，等位基因数(NA)，有效



等位基因数(NE)，期望杂合度(HE)，观测杂合度(HO)，香农信息指数(I)和基因分化系数(FST)等；利用STRUCTURE、POPTREE2、GenAlEx 等软件进行种群分化和聚类分析；利用IM、BARRIER、ALLELEINSPACE等软件分析物种和种群间的基因流情况。利用DnaSP等软件计算S、 π 、 θ_w 、H、Hd等核苷酸多态性指标；采用MFDM、Tajima'sD等方法检测核基因座位群体遗传学上的自然选择信号；使用STRUCTURE、GENECLASS、GENELAND、TESS等进行遗传聚类分析；利用TCS、NETWORK等软件进行基因型间的遗传进化关系分析。

⑤物种形成及群体历史模拟

利用ABC(Approximate Bayesian Computation)、IM、 $\partial a \partial i$ 、MIGRATE、PSMC 等各类分析软件及方法，模拟和检验江孜沙棘的同倍体杂交物种形成过程(如图3所示)；检测在其形成过程中三个类群的种群历史动态、种间基因流的强度和时空分布模式；分析江孜沙棘起源过程与青藏高原地区地质历史和气候波动以及伴随的生态系统变迁之间的相关性。